

赛山梅种子萌发期生理生化特性研究

涂峰¹, 万俊鹏², 胡永清¹, 喻方圆^{2*}

(1. 南京林业大学实验室与基地建设管理处, 江苏南京 210037; 2. 南方现代林业协同创新中心, 南京林业大学林学院, 江苏南京 210037)

摘要 [目的]研究赛山梅(*Styrax confusus*)种子萌发生理生化特性。[方法]对赛山梅种子萌发期生理生化指标变化进行测定,包括贮藏营养物质含量以及相关酶活性。[结果]赛山梅种子萌发初始阶段可溶性蛋白含量整体呈上升趋势,可溶性糖含量先上升后下降,淀粉酶活性先上升后下降趋于平缓,同时淀粉含量不断下降,过氧化物酶活性在萌发后期明显升高。赛山梅种子萌发初期淀粉转化成可溶性糖和蛋白质,种子代谢活性显著提高。[结论]该研究为揭示赛山梅种子萌发期的代谢规律,促进赛山梅种子迅速整齐萌发提供了科学依据。

关键词 赛山梅;种子;萌发期;生理生化指标

中图分类号 S 718.43 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)17-0108-03

A Study on Physiological and Biochemical Characteristics of *Styrax confusus* Seeds during Germination Stage

TU Feng¹, WAN Jun-peng², HU Yong-qing¹ et al (1. The Management Office of the Lab and Base Construction, Nanjing Forestry University, Nanjing, Jiangsu 210037; 2. Co-Innovation Center of the Sustainable Forestry in Southern China, College of Forestry, Nanjing Forestry University, Nanjing, Jiangsu 210037)

Abstract [Objective] To reveal the physiological and biochemical characteristics of *Styrax confusus* seeds during the germination stage. [Method] The changes of physiological and biochemical indexes in the germination period of *S. confusus* were measured, including the contents of nutrients and the activity of related enzymes. [Result] The soluble protein content in the initial stage of seed germination was on the rise. The soluble sugar content increased first and then decreased. The activity of amylase decreased gradually and the starch content decreased. Peroxidase activity increased significantly in the late stage of germination. Starch of *S. confusus* seeds transformed to soluble sugar and protein during the initial stage of germination and metabolic activities of the seeds significantly increased. [Conclusion] This study provided a scientific basis for revealing the metabolic regularity of the seeds germination period and promoting the rapid and orderly germination of *S. confusus* seeds.

Key words *Styrax confusus*; Seeds; Germination stage; Physiological and biochemical index

种子植物个体发育中最为关键的时期就是种子的萌发期,种子植物开始生长的标志就是种子萌发。它是植物自身为了繁殖而形成的一种生物学特性,目的是用来适应环境(气候变化、温度差异等因素),对于种群能够顺利繁衍和进化具有非常重要的生物学意义^[1]。种子萌发问题一直是人们重点研究的问题之一。目前关于种子萌发的研究重点集中在蔬菜和农作物上,而对于林木的研究开展较少,且主要针对胚根突破种壳之后的时期,即萌发后期,对干燥种子吸水至胚根突破种壳的详细代谢过程^[2]却很少关注。针对存在的这些问题,拟采用赛山梅(*Styrax confusus*)种子研究萌发初始阶段胚乳的代谢过程,详细了解初始阶段不同代谢时期的起始点及种胚内含物和淀粉酶等生理指标在各时期的变化,为其他林木种子萌发初始阶段的研究提供支持。

1 材料与方

1.1 种子来源及处理 赛山梅种子种源为江西省龙南县,采种时间为2015年10月。将新采集的种子在3~5℃的低温下湿沙层积处理90d后取出进行发芽试验。

1.2 种子发芽试验 层积结束后,于2016年3月将种子用自来水冲洗干净,选取饱满健康、大小一致的种子进行发芽试验,具体步骤如下:通过四分法选取50粒种子,播种于盛有湿沙的发芽盒中,放入培养箱[(25±1)℃]中发芽,重复6

次(其中2次重复用于生化测定取样)。每隔3~5d喷水保持沙的湿润。

1.3 测定方法

1.3.1 种子发芽率测定。根据《林木种子检验规程》(GB2772—1999)^[3]要求的方法,间隔5d观察1次种子发芽情况,第30天结束发芽。

1.3.2 生理生化指标测定。置床后每隔5d取样,样品保存在-70℃冰箱中,发芽结束后,敲去种壳统一测定。可溶性蛋白质含量采用考马斯亮蓝G-250法测定;可溶性糖和淀粉含量采用蒽酮比色法测定;α+β淀粉酶、α淀粉酶及β淀粉酶活性采用水杨酸法^[4]测定;过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚比色法^[5]测定。

1.4 数据处理方法 采用Excel 2010进行数据录入和整理,采用SAS 9.3进行数据的单因素方差分析,计算标准误和进行多重比较。多重比较的显著性用P表示,当P<0.01时,存在极显著差异;当P<0.05时,存在显著差异;当P>0.05时,差异不显著。图表的制作用Microsoft Excel 2013软件完成。

2 结果与分析

2.1 可溶性蛋白质含量的变化 从图1可以看出,置床后15d内赛山梅种子内可溶性蛋白含量上升;置床后15~20d略有下降;置床后20~30d可溶性蛋白含量上升,且上升趋势大于前15d。赛山梅种子在种子萌发的30d中可溶性蛋白含量呈现先升后平稳再上升的趋势。

2.2 可溶性糖含量的变化 从图2可以看出,赛山梅种子内可溶性糖含量在置床后25d内呈上升趋势,置床后25~

基金项目 江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPD);江苏省农业三新工程项目(Lysx[2014]26)。

作者简介 涂峰(1979—),男,江苏句容人,助理工程师,从事林业生产经营等研究。*通讯作者,教授,博士,博士生导师,从事林木种苗教学和种子检验等研究。

收稿日期 2018-01-31; **修回日期** 2018-03-08

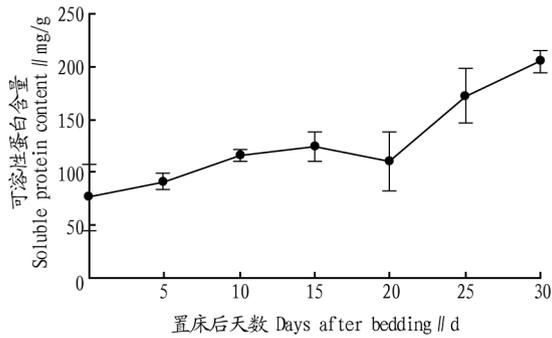


图1 赛山梅种子萌发过程中可溶性蛋白质含量的变化

Fig. 1 Changes of soluble protein content during germination of *S. confusus* seeds

30 d 可溶性糖含量急剧下降, 总体为先上升后急剧下降的趋势, 这可能是前期种子内淀粉、脂肪等大分子物质被用来提供能量, 可溶性糖被利用较少的缘故, 而到 25 d 时种胚代谢加强, 可溶性糖作为能源物质被大量消耗, 其含量大幅度下降。赛山梅种子种胚的可溶性糖含量在萌发初期的变化规律与油松种子的研究结果相似^[6]; 可溶性糖被直接作为原料物质利用。置床时间越长, 种子内代谢越旺盛。

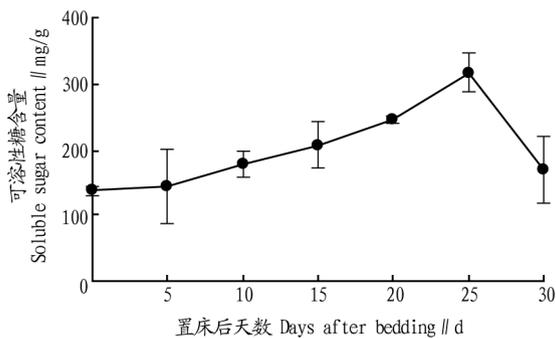


图2 赛山梅种子萌发过程中可溶性糖含量的变化

Fig. 2 Changes of soluble sugar content during germination of *S. confusus* seeds

2.3 淀粉含量的变化 从图3可以看出, 赛山梅种子中淀粉含量随着培养时间的延长不断降低。在置床后 15 d 内淀粉含量下降较快, 从 300 mg/g 降低至约 150 mg/g, 之后 15 d 下降缓慢, 逐渐趋于平稳, 从 150 mg/g 降低至 100 mg/g 左右。赛山梅种子内淀粉含量总体呈下降逐渐趋于平稳态势。赛山梅种子种胚的淀粉含量在萌发初期的变化规律表明: 培养初期阶段在淀粉水解酶的作用下淀粉被水解为可溶性碳水化合物。

2.4 淀粉酶活性的变化 从图4可以看出, 置床后 10 d 内赛山梅种子胚中 $\alpha+\beta$ 淀粉酶、 α 淀粉酶及 β 淀粉酶的活性均呈上升趋势; 10~20 d 均呈下降趋势; 20~30 d 总体趋于平缓。发芽时间内总体表现出先升高后降低, 最终趋于平缓的趋势, 并且 α 淀粉酶活性升高的幅度明显高于 β 淀粉酶。这与油松种子^[6]的研究结果相同。

从图4还可以看出, 总淀粉酶活性在置床 10 d 内上升趋势明显, 活性最高达 8.0 mg/(g·min), 与上述淀粉含量的变化相互对应, 淀粉酶活性升高, 则淀粉降解快, 淀粉含量下降

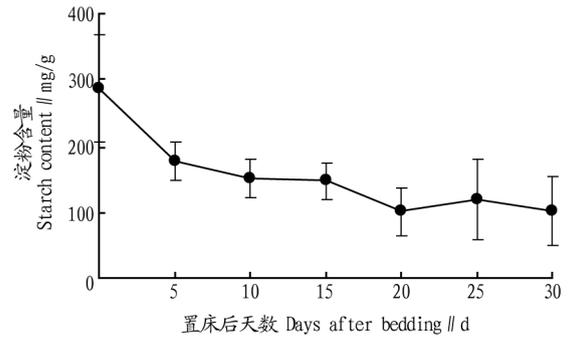


图3 赛山梅种子萌发过程中淀粉含量的变化

Fig. 3 Changes of starch content during germination of *S. confusus* seeds

明显, 后两者均有趋于平缓的趋势。这说明在种子萌发的 0~10 d 代谢活动较强, 胚生长需要大量的能量和原料, 贮藏淀粉迅速降解, α 淀粉酶、 β 淀粉酶及 $\alpha+\beta$ 淀粉酶活性随之大幅度升高, 与马尾松种子^[7]研究结果相同。

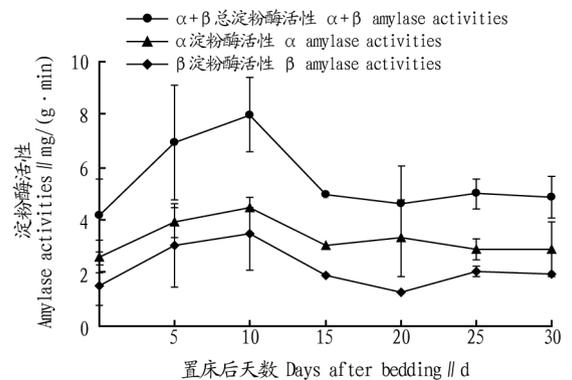


图4 赛山梅种子萌发过程中淀粉酶活性变化

Fig. 4 Changes of amylase activities during germination of *S. confusus* seeds

2.5 过氧化物酶活性的变化 从图5可以看出, 置床后 10 d 内过氧化物酶活性略有上升, 在 10~25 d 时快速下降, 30 d 时其活性达到最高, 大约是萌发初的 2 倍, 达 0.35 U/g。赛山梅种子内过氧化物酶活性总体呈先上升后下降最后再上升的趋势。

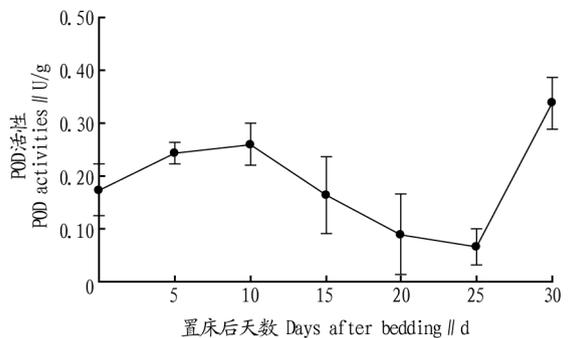


图5 赛山梅种子萌发过程中过氧化物酶活性变化

Fig. 5 Changes of POD activities during germination of *S. confusus* seeds

3 讨论与结论

3.1 贮藏营养物质含量及酶活性的变化 种子内各种生理

活动都需能量来支持,尤其是在种子萌发初始阶段,需要大量的能量和原料用于初始阶段旺盛的生命活动,例如新器官和新组织的合成。因而在萌发初始阶段形成了以水解为主,呼吸作用强烈进行的代谢特点^[8]。种子内大量可溶性糖、淀粉、可溶性蛋白等贮藏物质被用来参与该阶段的生理活动,一方面被水解生成易被胚吸收的小分子物质,从种胚运送到胚轴;另一方面为胚细胞的生命活动提供碳源和氮源,有利于胚的生长^[9]。

通过对赛山梅种子萌发初始阶段种胚能量代谢、物质代谢等方面的研究,基本揭示了经过低温层积处理后赛山梅种子萌发初始阶段的代谢机理。研究表明:①赛山梅种子在种子萌发的30 d中可溶性蛋白含量整体呈上升趋势,在萌发的前15 d含量趋于平衡,15~20 d时有明显下降。这个阶段代谢较强,可能是可溶性蛋白被大量水解成氨基酸的缘故。②种胚中可溶性糖含量在种子萌发开始的一段时间略有上升,后呈急剧下降的趋势,表明可溶性糖被直接作为原料物质利用。在一段时间内置床时间越长,种子内代谢越旺盛。③赛山梅种子在置床的前15 d内淀粉含量下降较快,说明培养初期在淀粉水解酶的作用下淀粉被水解为可溶性的碳水化合物,供应胚的生长。④赛山梅种子种胚中淀粉含量和淀粉酶呈负相关。随着淀粉酶活性的增强,种子内淀粉含量下降更快。

3.2 过氧化物酶活性的变化 相关研究表明,超氧化物歧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶活性的高低与种子活力呈正相关^[10]。该研究发现,在整个萌发初始阶段,过氧化物酶活性呈现先上升后下降最后急剧上升的趋势,意味着细胞活动增强导致有害物质增多,保护酶活性逐步降低,细胞内自由基的产生和清除已处于不稳定状态,严重影响种子的萌发,后逐渐趋于正常萌发,代谢加强,有害物质减少,最终过氧化物酶活性增强,与该研究中赛山梅种子萌发的动态变化相一

致。作为种子生活力与活力强弱的参考指标,过氧化物酶这种与内源保护反应相关的酶是在种子萌发的中后期才明显启动,其活性随胚的萌动与生长而提高,以增强其对活性氧的清除和抗逆能力。过氧化物酶是参与种子萌发的重要酶类。很多研究表明,过氧化物酶活性都随着种子萌发而迅速增加^[11-12]。赛山梅种子在萌发过程中,过氧化物酶活性逐渐增强,加速了向PPP途径的转化,这与山楂种子^[13]的研究结论相似,萌发时过氧化物酶活性提高有利于PPP途径,促进种子休眠的解除。

参考文献

- [1] 乌凤章,刘桂丰,姜静,等.种子萌发调控的分子机理研究进展[J].北方园艺,2008(2):54-58.
- [2] 郑光华,史忠礼,赵同芳,等.实用种子生理学[M].北京:农业出版社,1990.
- [3] 国家质量技术监督局.林木种子检验规程:GB 2772—1999[S].北京:中国标准出版社,2000.
- [4] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2004.
- [5] 黄学林,陈润政.种子生理实验手册[M].北京:农业出版社,1990.
- [6] 陈丽培.油松种子萌发初始阶段生理生化特性研究[D].南京:南京林业大学,2009.
- [7] 任淑娟.马尾松种子萌发初期的细胞周期和生理特性的研究[D].南京:南京林业大学,2010.
- [8] 柴家荣.白肋烟种子萌发的生理生化动态研究[J].中国烟草科学,2006(2):32-36.
- [9] KHAN A A. Primary, preventive and permissive role of hormones in plant systems[J]. The botanical review, 1975,41(4):391-420.
- [10] MAJOR W,ROBERTS E H. Dormancy in cereal seeds: II. The nature of the gaseous exchange in imbibed barley and rice seeds [J]. Journal of experimental botany, 1968,19(58):90-101.
- [11] 董建华,崔德才,邵宗泽,等. 苜蓿种子萌发过程中盾片上皮细胞超微结构的变化及酸性磷酸酶的动态[J]. 实验生物学报,1996,29(1):71-79.
- [12] 蒋跃明,陈芳,李月标,等. 板栗种子萌发过程中生理生化特性的探讨[J]. 广东林业科技,1995,11(3):15-17.
- [13] 张培玉,杨晓玲,顶殿芳,等. 山楂种子休眠和萌发与内源激素含量的变化[C]//中国园艺学会. 中国园艺学会成立70周年纪念优秀论文选编.北京:中国科学技术出版社,1999:4.

(上接第81页)

5.3 加强监测预报预警研究 通过增加监测站点、优化监测频次等方法,完善水污染监测体系,实现对水污染实时动态监控,并实现对水污染的预报预警,为水资源环境管理提供决策依据。

参考文献

- [1] 杨美临,范晓梅.渭河流域径流年内分配变化规律分析[J].安徽农业科学,2010,38(21):11233-11235.

- [2] 王华东,薛纪瑜.环境影响评价[M].北京:高度教育出版社,1989.
- [3] 陆雍森.环境评价[M].上海:同济大学出版社,1999.
- [4] 谢永明.环境水质模型概论[M].北京:中国科学技术出版社,1996.
- [4] 国家环境保护部.地表水环境质量评价办法(试行)[A].2011:9.
- [5] 国家环保总局,国家质量监督检验检疫总局.地表水环境质量标准:GB 3838—2002[S].北京:中国环境科学出版社,2002.
- [6] 张春玲,周晓强.陕西省渭河流域水质现状与保护对策探讨[J].陕西水利,2009(4):16-18.
- [7] 栢玲.节水措施在农业灌溉中的应用[J].农业与技术,2016,36(2):53.
- [8] 潘伯宁,徐进.大沽河干流青岛段水污染现状调查评价及防治对策[J].环境科学与管理,2006(6):180-183.

科技论文写作规范——缩略语

采用国际上惯用的缩略语。如名词术语 DNA(脱氧核糖核酸)、RNA(核糖核酸)、ATP(三磷酸腺苷)、ABA(脱落酸)、ADP(二磷酸腺苷)、CK(对照)、CV(变异系数)、CMS(细胞质雄性不育性)、IAA(吲哚乙酸)、LD(致死剂量)、NAR(净同化率)、PMC(花粉母细胞)、LAI(叶面积指数)、LSD(最小显著差)、RGR(相对生长率),单位名缩略语 IRRI(国际水稻研究所)、FAO(联合国粮农组织)等。对于文中有些需要临时写成缩写的词(如表及图中由于篇幅关系以及文中经常出现的词而写起来又很长时),则可取各主要词首字母写成缩写,但需在第一次出现处写出全称,表及图中则用注解形式在下方注明,以便读者理解。